

# НАБІР РЕАГЕНТІВ TAENIA SOLIUM IgG ELISA

## Taenia Solium IgG ELISA

Каталог. №: EIA-3513

Дата випуску інструкції: 2018/08  
Версія 3.0



Основою при проведенні аналізу є оригінал інструкції англійською мовою, вкладеної в набір. Номер і дата версії оригіналу і перекладу інструкції повинні збігатися.

### 1. ПРИЗНАЧЕННЯ

Для якісного скринінгу сироваткових або плазмових антитіл IgG до свинячого ціп'яка із застосуванням методики імуноферментного аналізу (ІФА).

#### 1.1 Короткий опис

Інфікування личинкової форми (цистицерки) *Taenia* в будь-якій тканині або органі відоме як хвороба цистицеркоз. Було задокументовано багато місць зараження, але центральна нервова система була найпоширенішою. Наявність цистицерків у мозку може спричинити підвищення черепного тиску, судоми та зміну психічного стану. Будь-яка людина з порушеннями функції ЦНС повинна мати можливість для дослідження інфекції *T. solium*. Хвороба набувається при попаданні в організм яєць *T. solium* різним шляхом; включаючи їжу, забруднену фекаліями, нечисті руки працівників, інфікованих *T. solium*, забруднену воду або шлунковий рефлюкс у носіїв стрічкових черв'яків.

Цистицеркоз рідкісний у більшості промислово розвинутих країнах, але ендемічний у таких регіонах, що розвиваються: Латинська Америка, Азія та Африка. Більшість випадків цистицеркозу в США пов'язані з іммігрантами з цих країн.

Надійна діагностика цистицеркозу вимагає багатьох методів тестування, таких як рентгенографія та серологія. Незважаючи на те, що використання кістозного везикулярного антигену сприяло підвищенню його чутливості та специфічності, спостерігаються значні перехресні реакції з ехінококком. Якщо при диференціальному діагнозі не можна виключити зараження ехінококком, позитивний зразок слід підтвердити іншими способами (тобто імуноблот, запропонований CDC) або іншими несерологічними методами.

### 2. ПРИНЦИП ТЕСТУ

Мікробиопробувальні лунки покриті рідинним антигеном кисти *T. solium*. Під час першої інкубації з розведеним зразком пацієнта будь-які антитіла, які реагують з антигеном, будуть зв'язуватися з покритими лунками. Після промивання, щоб видалити залишок зразка, додають Ферментний Кон'югат. Якщо антитіла були зв'язані з лунками, Ферментний Кон'югат зв'язується з цими антитілами. Після чергової серії промивань, додають хромоген (тетраметилбензидин або ТМБ). Якщо присутній Ферментний Кон'югат, пероксидаза буде каталізувати реакцію, яка споживає перексид і перетворює хромоген з прозорого на синій. Додавання стоп-розчину закінчує реакцію і перетворює синій колір у яскраво-жовтий. Потім реакцію можна зчитати візуально або за допомогою зчитувача ELISA.

### 3. РЕАГЕНТИ

Елементи	Опис	Символ
Мікротитрові лунки	Мікролунки, що містять антигени <i>T. solium</i> - 96 тест-лунок у тримачі тест-смужок.	MT PLATE
Ферментний Кон'югат	Один (1) флакон, що містить 11 мл білка-А, кон'югованого з пероксидазою.	CONJ
Позитивний контроль	Один (1) флакон, що містить 1 мл розведеної позитивної кролячої сироватки.	CONTROL +
Негативний контроль	Один (1) флакон, що містить 1 мл розведеної негативної сироватки людини.	CONTROL -
Хромоген ТМБ	Один (1) флакон, що містить 11 мл хромогену тетраметилбензидину (ТМБ).	SUBS TMB
Промивний концентрат (20X)	Один (1) флакон, що містить 25 мл концентрованого буфера та ПАР.	WASH BUF
Буфер для розведення	Два (2) флакони, що містять 30 мл забуференого розчину білка.	SPECM DIL
Стоп-розчин	Один (1) флакон, що містить 11 мл 1M фосфорної кислоти.	SOLN

### 4. ПОПЕРЕДЖЕННЯ

Не використовувати розчини, якщо вони мають осад або помутніли. Промивний концентрат може виявити кристалізацію за умови зберігання при температурі 2 °C - 8 °C. Кристалізація зникає після розведення до робочої міцності.

Не використовуйте сироватку, яка, можливо, підтримувала ріст мікробів або помутніла через високий вміст ліпідів. Зразки з високим вмістом ліпідів перед використанням слід очистити.

З усіма сироватками слід поводитись так, ніби вони є інфекційними. За допомогою необхідних методів тестування негативний контроль був протестований та визнаний негативним щодо поверхневого антигену гепатиту В та антитіла до ВІЛ. Цей продукт слід використовувати за належних умов безпеки, які б застосовувалися для будь-якого потенційно збудника інфекції.

Не додавати азида до зразків або будь-якого з реагентів.

### 5. ЗБЕРІГАННЯ

Реагенти, смужки та компоненти, розлиті в пляшки, слід зберігати при температурі від 2 °C до 8 °C.

М'який флакон, що містить розведений промивний буфер, можна зберігати при кімнатній температурі.

### 6. ПІДГОТОВКА

**Промивний буфер** - Зніміть кришку та додайте вміст флакону до 475 мл води, що відповідає реагенту. Помістіть розведений буфер для промивання в м'який флакон з вузьким отвором для наконечника.

*Примітка:* Промивання складаються з заповнення доверху кожної лунки, витрушування вмісту та повторного наповнення.

Уникайте утворення бульбашок у лунках на етапах промивання.

### 7. ЗАБІР ТА ОБРОБКА ЗРАЗКА

Сироватку або плазму (зібрану з гепарином, EDTA або цитратом) слід зберігати при температурі від 2 °C до 8 °C, якщо аналіз слід провести протягом 5 днів.

Зразки можна зберігати довше при -20 °C або при нижчій температурі протягом 1 року.

Не нагрівайте інактивовані зразки та уникайте повторного заморожування та розморожування зразків.

### Тест-зразки:

Зробіть **1:64 розведення** зразка пацієнта за допомогою буфера для розведення (наприклад, 5 мкл зразка та 315 мкл буфера для розведення).

### 8. ПРОЦЕДУРА ТЕСТУВАННЯ

#### 8.1 Надані матеріали

Набір *Taenia solium* IgG ELISA

#### 8.2 Необхідні матеріали, які не надаються

- мікропіпетки
- м'який флакон для промивання смужок (рекомендується вузький наконечник)
- вода для реагентів та градуйований циліндр
- пробірки для розведення зразків
- абсорбуючий папір
- таймер

#### 8.3 Рекомендовані матеріали

Зчитувач планшетів ELISA з 450 нм та фільтром від 620 до 650 нм (необов'язково, якщо результати зчитуються візуально).

#### 8.4 Процедура тесту

- Відламайте необхідну кількість лунок (дві для контролів плюс кількість зразків) і помістіть у тримач для смужок.
- Додайте **100 мкл** (або 2 краплі) негативного контролю до лунки №1, **100 мкл** позитивного контролю до лунки №2 і **100 мкл** розведених (1:64) тестових зразків в інші лунки. *Примітка:* Негативний та позитивний контроль постачаються у розведеному вигляді. НЕ розводити знову.
- Інкубуйте при кімнатній температурі (від 15 °C до 25 °C) протягом 10 хвилин.
- Витрусіть вміст і промийте 3 рази розведеним буфером для миття.\* Після останнього етапу промивання струсіть лунки на чистий абсорбуючий рушник, щоб видалити надлишок буфера для промивання.
- Додайте 2 краплі (100 мкл) Ферментного Кон'югату в кожен лунку.
- Інкубуйте при кімнатній температурі протягом 5 хвилин.
- Витрусіть вміст і промийте 3 рази буфером для промивання.\*

Після останнього етапу промивання струсіть лунки на чистий абсорбуючий рушник, щоб видалити надлишок буфера для промивання.

8. Додайте 2 краплі (100 мкл) хромогену в кожну лунку.
9. Інкубуйте при кімнатній температурі протягом 5 хвилин.
10. Додайте 2 краплі (100 мкл) Стоп-розчину і перемішайте, натиснувши на тримач смужки.

\* Якщо ви використовуєте автоматичні промивачі: додайте 1 хвилину часу затримки між миттям та збільшіть кількість промивань з трьох до п'яти.

По можливості уникайте утворення бульбашок у лунках, оскільки це може вплинути на кінцеві результати.

## 9. ЗЧИТУВАННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

Візуально: Подивіться на кожну лунку на білому фоні (наприклад, паперовий рушник) і запишіть як чітку або +, ++ або +++ реакцію.

Зчитувач ELISA: Нульовий зчитувач включений. Набір для біхроматичних показників при 450 / 650-620 нм

## 10. КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Використання контролів дозволяє перевірити стабільність набору. Набір не слід використовувати, якщо будь-який контроль знаходиться поза зоною дії.

Очікувані значення для контролів:

**Негативні** - від 0.0 до 0.2 одиниць ОЩ

**Позитивні** - 0.5 одиниць ОЩ і вище

### 10.1 Інтерферуючі речовини

Гемоглобін (до 4 мг / мл), білірубін (до 0.5 мг / мл) та тригліцериди (до 30 мг / мл) не впливають на результати аналізу.

## 11. УСУНЕННЯ НЕСПРАВНОСТЕЙ

Негативний контроль має надмірне забарвлення після розвитку.

**Причина:** неправильне миття.

**Виправлення:** мити інтенсивніше. Видалити надлишок рідини з лунок, постукуючи по абсорбуючому рушнику. Не допускати висихання тест-лунок.

## 12 ІНТЕРПРЕТАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

### 12.1 Інтерпретація результатів – ELISA зчитувач

Нульовий зчитувач ІФА включений. Зчитати усі лунки при 450/650 до 620 нм.

**Позитивний** - показник поглинання, що дорівнює або перевищує 0.3 одиниці ОЩ.

**Негативний** - показник поглинання менше 0.3 одиниць ОЩ.

Позитивне значення ОЩ вказує на те, що пацієнт може бути інфікований *T. solium* або ж близькоспорідненим організмом (наприклад, ехінококом).

Негативне значення ОЩ свідчить про те, що у пацієнта немає виявлення рівнів антитіл. Це може бути пов'язано з відсутністю інфекції або поганою імунною реакцією пацієнта.

### 12.2 Візуальна інтерпретація результатів

Порівняйте результати з контролями. Зразок слід інтерпретувати як позитивний, якщо ступінь розвитку кольору очевидний та значний.

## 13 ОБМЕЖЕННЯ ПРОЦЕДУРИ

Серологічні результати допомагають у діагностиці, але не можуть бути єдиним методом діагностики. У цьому аналізі відбуватимуться значні перехресні реакції з інфекціями ехінококів. Якщо при диференціальному діагнозі не можна виключити зараження ехінококом, позитивний зразок слід підтвердити іншими способами (напр. імуноблот, запропонований CDC) або іншими несерологічними методами.

## 14 ОЧІКУВАНІ ЗНАЧЕННЯ

Кількість людей, що демонструють позитивні результати, може суттєво відрізнятися в залежності від популяції та географічних регіонів. Якщо це можливо, кожна лабораторія повинна встановити очікуваний діапазон для своєї групи пацієнтів.

## 15 РОБОЧІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

		Референтний метод	
		+	-
EIA-3513	+	72	2
	-	10	46

## 15.1 Чутливість

Тридцять зразків, визначених позитивними за допомогою тесту імуноблот на цистицеркозну інфекцію, тестували набором DRG ELISA (EIA-3513); 26/30 зразків були позитивними в наборі ELISA (EIA-3513), що дало чутливість 87% порівняно з імуноблотом.

П'ятдесят два зразки були позитивні за допомогою іншого ІФА на наявність цистицеркозної інфекції, були протестовані набором DRG ELISA (EIA-3513); 46/52 зразки були позитивними в наборі ELISA (EIA-3513), що дало чутливість 88% порівняно з іншими ELISA.

## 15.2 Специфічність

Сорок вісім нормальних зразків тестували в наборі ELISA (EIA-3513); 46/48 зразків були негативними в наборі ELISA (EIA-3513), що дало специфічність 96%.



### ВИРОБНИК

DRG Instrumente GmbH  
вул. Фраунберг 18, 35039

м. Марбург, Німеччина

Тел: +49(0)64 21/170 00

Факс: +49(0)64 21/1700 50

[www.drg-diagnostics.de](http://www.drg-diagnostics.de)

e-mail: [drq@drq-diagnostics.de](mailto:drq@drq-diagnostics.de)



### УПОВНОВАЖЕНИЙ ПРЕДСТАВНИК

ТОВ «ДІАМЕБ ТРЕЙД»

вул. Симона Петлюри, 25

м. Івано-Франківськ, 76014

тел.: +38 (0342) 775 122

факс: +38 (0342) 775 123

e-mail: [info@diameb.ua](mailto:info@diameb.ua)

[www.diameb.ua](http://www.diameb.ua)

